



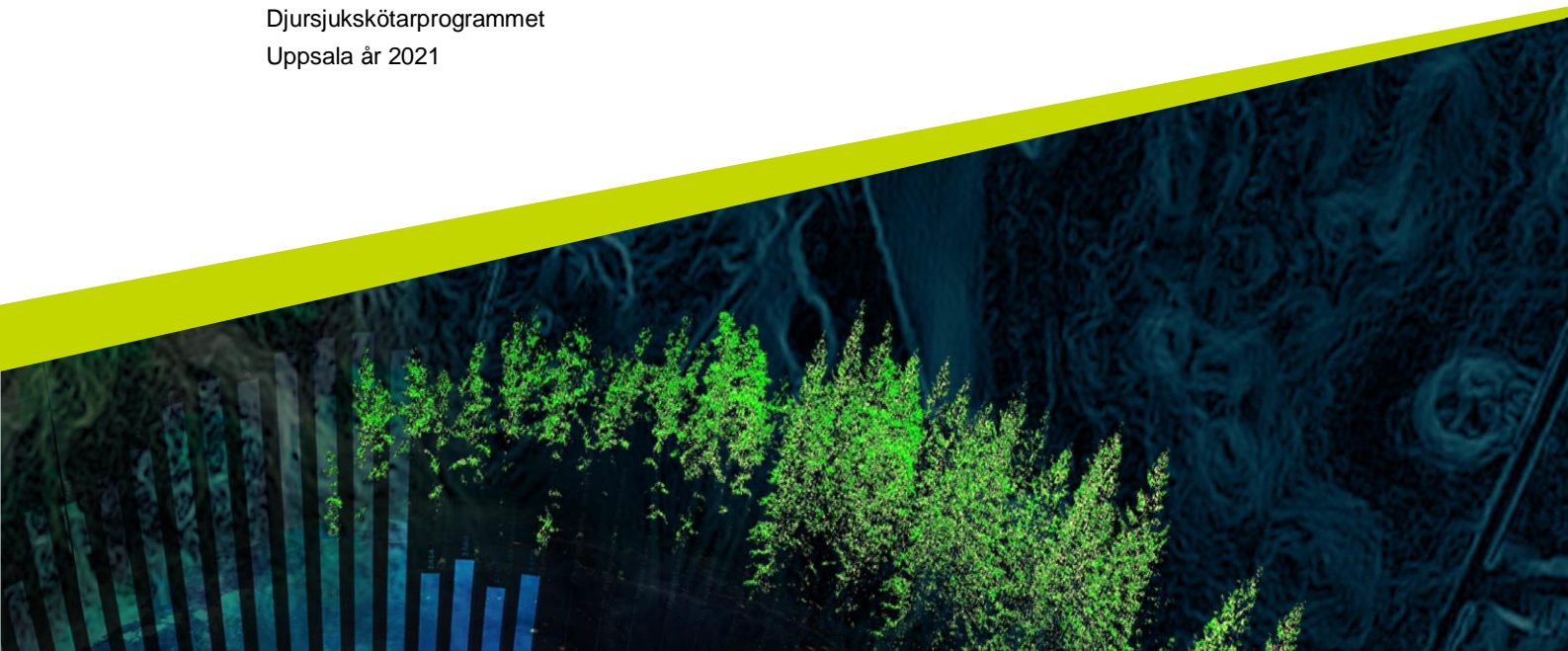
Att raka eller inte raka

– En jämförelse av förekomsten av bakterier före och efter rakning inför venös blodprovstagning på hund

To shave or not to shave – a comparison of presence of bacteria before and after shaving in preparation for venipuncture in dogs

Josefin Lindskog och Linn Ekberg

Självständigt arbete i djuromvårdnad • 15 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Institutionen för kliniska vetenskaper
Djursjukskötarprogrammet
Uppsala år 2021



Att raka eller inte raka – En jämförelse av förekomsten av bakterier före och efter rakning inför venös blodprovstagning på hund

To shave or not to shave – a comparison of presence of bacteria before and after shaving in preparation for venipuncture in dogs

Josefin Lindskog och Linn Ekberg

Handledare:	Lena Olsén, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Bitr. handledare:	Lise-Lotte Fernström, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Examinator:	Ingrid Hansson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Omfattning:	15 hp
Nivå och fördjupning:	Grundnivå, G2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i djuromvårdnad
Kurskod:	EX0994
Program/utbildning:	Djursjukskötprogrammet
Kursansvarig inst.:	Institutionen för kliniska vetenskaper, Avdelningen för djuromvårdnad
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2021
Omslagsbild:	SLU
Nyckelord:	Bakterier, blodprov, desinfektion, hygien, päls

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper
Avdelningen för djuromvårdnad

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

☒ JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

☐ NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

I veterinärmedicinsk litteratur anges ofta att rakning bör ske inför blodprovstagning via *v. cephalica* på hund, då det anses vara mer hygieniskt. Dock finns det mycket få studier som undersökt den hygieniska aspekten av rakning. Däremot finns det konstaterade negativa effekter av rakning. Rakning har i tidigare studier visats orsaka diverse hudproblem, såsom mikrosår och erytem. I detta examensarbete inom djuromvårdnad undersöktes om det var någon skillnad att raka eller inte raka hundarnas ben inför ett blodprov, ur ett hygieniskt perspektiv.

I studien undersöktes bakterieodlingar, som mått på hygien, från 20 Beaglar där svabbprov togs från båda frambenen. Det ena benet var rakat och det andra var orakat, varav hälften av hundarna rakades på höger ben och den andra hälften på vänster ben. Provtagningsområdena förbereddes genom att båda områdena desinfekterades med klorhexidinsprit 5 mg/ml (spritning), för att sedan provtas med en svabb. Hälften av hundarna provtogs även innan spritning för att identifiera vilka bakterier som fanns naturligt på hundarnas hud. Svabben placerades i ett rör med fysiologiskt koksalt. En pipett användes för att dra upp 0,1 ml av lösningen, som sedan racklades ut på blodagar och Sabouraud agar för odling av bakterier respektive svampar. Agarplattorna märktes med de fyra sista siffrorna i hundens chipnummer samt om provet kom från höger eller vänster ben, men inte om benet var rakat eller ej. Anledningen till det var att studien skulle bli så blindad som möjligt, alltså vid avläsningen skulle studenterna inte veta om provet kom från rakat eller orakat ben. Blodagarn inkuberades i 24+24 h i 37°C, efter inkuberingen räknades och jämfördes antalet bakteriekolonier som vuxit på prover från höger respektive vänster ben för varje individ, och antalet dokumenterades. Vissa av kolonierna renodlades för att sedan identifieras med MALDI-TOF. Sabourauden inkuberades i 120 h eller 144 h i 30°C.

Resultatet visade ingen signifikant skillnad mellan rakning och ingen rakning, varken före eller efter spritning ($p=0,13$ innan spritning och $p=0,28$ efter spritning). Däremot kunde en signifikant skillnad mellan att sprita och att inte sprita påvisas ($p=0,009$). De vanligaste förekommande bakterierna på huden efter spritning var bakterier ur familjen *Micrococcaceae*, en vanligt förekommande bakteriefamilj som ofta finns i hårsäckarna och innefattar många olika underarter, varav vissa kan orsaka sjukdom.

Utifrån studiens resultat kan slutsatsen dras att rakning inför ett blodprov via *v. cephalica* varken är hygieniskt fördelaktigt eller ofördelaktigt. Studien visade också att spritning har stor påverkan på bakteriemängden vid utförandet av ett blodprov. Urvalsgruppen i denna studie var kraftigt begränsad och homogen. Vidare studier behövs för att utvärdera effekten av rakning på hundar med exempelvis olika ras, pälstyp, ålder, och livsmiljö. Förberedelserna inför blodprovstagning bör individanpassas ut efter varje patients behov. Att raka inför blodprovstagning på korthåriga hundar via *v. cephalica* kan, utefter denna studie, därmed anses vara frivilligt.

Nyckelord: Bakterier, blodprov*, desinfektion, hygien, päls

Abstract

In literature of veterinary medicine, clipping is often recommended before venipuncture of *v. cephalica* because it is considered more hygienic. The research on this topic, however, is very limited. Furthermore, clipping has been shown to have some negative impact on the skin. In previous studies clipping has been shown to cause dermatological problems, such as micro wounds and erythema. The aim of this study was to compare the amount of bacteria on the skin after disinfection with or without clipping the fur beforehand.

The study was performed using 20 Beagles at the Swedish University of Agricultural Sciences (SLU). The samples were taken from both forelimbs of the same dog, one shaved and one unshaved. Both legs were disinfected with Chlorhexidine 5 mg/ml before sampling by a swab from each forelimb. Half of the dogs were shaved on the right forelimb, the other half on the left. Furthermore, swab samples were taken from ten dogs before disinfection, to compare with samples taken after disinfection. This was done to get an opinion of the effect of the disinfection, and to get an idea of what bacteria naturally colonised the dogs' skin. After sampling the swab was placed in a sterile tube with physiological saline. The tube with the swab were homogenized and 0.1 ml of the solution were surfaced plated on a blood agar and a Sabouraud agar. All agar plates were marked with an ID of the last four numbers in the dogs' chip, and if the sample was taken from the right or left forelimb. The agar plates were not marked with the information if the leg was shaved or not, to make sure the information could not be seen beforehand, meaning the study was as blinded as possible. The blood agar plates were incubated in 37°C for a total of 48 h and the Sabouraud agar plates were incubated in 30°C for 120 h to 144 h. After incubation for 24 h and 48 h, the blood agar was examined, and the number of bacteria were counted and visually compared for each forelimb. Some of the bacterial colonies were re-cultured to get them in pure culture, making them possible to identify at species level by the use of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF). The result showed no difference in the number of bacteria between samples taken from the clipped or not clipped forelimb. In general it showed very little growth from samples taken after disinfection, both on the clipped and not clipped forelimbs. However, a significant difference ($p=0,009$) was found between the disinfected and not disinfected area of the leg. The most commonly found bacteria on the skin belonged to family *Micrococcaceae*, which is a bacteria frequently found in the hair follicles.

The conclusion of this study was that clipping before venipuncture of *v. cephalica* was not preferable from a hygienic perspective, when hygiene is measured by the amount of bacterial growth, nor was it less hygienic. Clipping before a venipuncture should therefore be considered optional. The study was limited by the selection of dogs chosen to participate. Therefore future studies including different types of breeds, coats, ages, activity levels and living conditions would be of interest.

Keywords: Bacteria, canine, clip*, disinfect*, fur, hygiene

Innehållsförteckning

1. Inledning	11
1.1. Syfte	12
1.2. Frågeställningar	12
1.3. Bakgrund	12
1.3.1. Hundens normala hudflora	12
1.3.2. Dermatologiska problem i samband med rakning hos hund	13
1.3.3. Tidigare forskning	14
1.3.4. MALDI-TOF	14
1.3.5. Agar	16
2. Material och metod	17
2.1. Litteratursökning	17
2.1.1. Hundar	18
2.2. Metod	18
2.2.1. Provtagning	19
2.2.2. Analys	20
3. Resultat	24
4. Diskussion	31
4.1. Metoddiskussion	32
4.2. Resultatdiskussion	36
5. Konklusion	40
6. Referenser	41
7. Tack	44
8. Bilagor	45

Tabellförteckning

Tabell 1	Antalet bakteriekolonier på prov tagna från 10 hundar, odlade på blodagarplattor som avlästes efter 24h och 48h. Prov tagna med AMIES från Copan innovation.	24
Tabell 2	Antalet bakteriekolonier på prov tagna från 10 hundar innan och efter spritning, odlad på blodagarplattor som avlästes efter 24 h och 48 h. Prov tagna med cotton tipped applicator från SELEFA	25
Tabell 3	Resultat av MALDI-TOF-undersökning på renodlad blodagar inkuberad i 24 h, på prov från rakat och orakat ben innan spritning.	28

Figurförteckning

Figur 1. Erytem orsakat av rakning. Foto: Josefin Lindskog	13
Figur 2. Schematisk bild av provplattan tillhörande MALDI-TOF.	15
Figur 3. Blodagar. Foto: Linn Ekberg.	16
Figur 4. Sabouraud agar. Foto: Linn Ekberg.	16
Figur 5. Plastmall, 3x1cm, markerar provtagningsytan. Applicerat för provtagning. Foto: Josefin Lindskog.	19
Figur 6. Falconrör märkta med hund ID, före eller efter spritning, orakat eller rakat ben samt höger eller vänster ben. Foto: Linn Ekberg.....	19
Figur 7. Bakteriekolonier på blodagar inför renodling. De olika färgerna markerar de olika bakteriekolonierna som renodlades från denna platta. Foto: Linn Ekberg.....	21
Figur 8. Schematisk bild på tillvägagångssätt av sekundärutstryk. Röd; en koloni tagen med en engångsplatinös och placerats på agarplattan. Grön; ny engångsplatinös används för att sprida ut kolonin, Blå; andra sidan av engångsplatinösen används för att dra igenom och sprida ut utstryket. I studien användes främst metod 2, förutom då det bara var 2 kolonier att renodla – då användes metod 1.	21
Figur 9. Utstryk för renodling. Foto: Josefin Lindskog.....	22
Figur 10. Stapeldiagram för prover tagna efter spritning, y-axel; antal bakteriekolonier, x-axel; hund #ID.	26
Figur 11. Stapeldiagram för prover tagna innan spritning, Y-axel; antal bakteriekolonier, X-axel; hund #ID.....	27
Figur 12. Antal bakteriekolonier efter odling på blodagar, prover tagna från tio hundar. ×-markeringen visar medelvärde för antal kolonier på rakat respektive orakat ben. ° visar extremvärden som ligger utanför 10e respektive 90e procentilen. I boxen visas värden mellan den 25e och 75e procentilen.....	27
Figur 13. Renodling av fyra kolonier på blodagarplatta. Foto: Josefin Lindskog.	29
Figur 14. Bakteriearter identifierade av MALDI-TOF. Y-axeln visar förekomst av bakterieisolat från alla renodlingar. X-axeln visar bakterieart.....	29

Förkortningar

BVF	Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry
SLU	Sveriges Lantbruksuniversitet
UDS	Universitetsdjursjukhuset

1. Inledning

I veterinärmedicinsk litteratur uppges det att djurhälsopersonal bör eller skall raka pälsen på en hund vid blodprovstagning via *v. cephalica*, venen på frambenet (Orpet & Welsh 2011). I vissa fall motiveras detta med att det är av hygieniskäl (Brown 2014). En bra definition av vad ”hygieniskt” i detta avseende innebär förefaller dock saknas i litteraturen. I detta examensarbete i djuromvårdnad definieras hygieniskt fördelaktigt till en lägre detekterad bakterieförekomst. Vid Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU) undervisas att rakning är en viktig förberedelse inför blodprovstagning hos smådjur. Inget stöd har kunnat hittas vid litteratursökning som visar att det skulle vara hygieniskt fördelaktigt, eller inte fördelaktigt, att raka innan blodprovstagning via *v. cephalica*. Två studier har utförts där signifikansen av rakning inför artrocentres respektive blodprov via *v. jugularis* har undersökts (Fernanda Sargi et al. 2018; Lavallée et al. 2020). Detta indikerar att mer kunskap som kan ligga till grund för detta beslut hade kunnat vara fördelaktigt för djurhälsopersonal. Enligt lag skall legitimerad djurhälsopersonal ”fullgöra sina arbetsuppgifter i överensstämmelse med vetenskap och beprövad erfarenhet” (SFS 2009:302). Det behövs således vetenskapliga studier inom detta område för att djurhälsopersonal skall kunna utföra arbetsuppgifter i överensstämmelse med vetenskap i enlighet med Jordbruksverkets SFS2009:302, då beslut av detta slag i nuläget endast baseras på beprövad erfarenhet.

En god vårdhygien är en av grundpelarna för patientsäkert utövande av sjukvård, då patogena och opportunistiska bakterier kan orsaka infektioner och sjukdom hos patienterna. Det finns olika metoder att undersöka om hygienåtgärderna har varit tillräckliga. En metod är att mäta bakterieväxt på huden genom att exempelvis använda en steril tops för svabb av hudytan, och sedan utföra en bakterieodling på ett odlingsmedium. Bakteriekolonierna kan sedan räknas och artbestämmas, exempelvis med tekniker som MALDI-TOF eller genom analys med biokemiska tester. Vanligt förekommande hudbakterier hos hund är *Staphylococcus* spp. och *Micrococcus* spp., vilket är två familjer av bakterier som båda kan vara patogena (Bannoehr & Guardabassi 2012; Messiaen et al. 2019; Karolinska Institutet u.å).

En standard för blodprovstagning hos hund är att blod tas via *v. cephalica* (Orpet & Welsh 2011; Cooper et al. 2011:513). Därför valdes detta område för provtagning

i denna studie, eftersom studien syftar till hygienaspekter vid blodprovstagning. I mer sällsynta fall kan blodprovstagning även ske via *v. saphena* i bakbenen eller *v. jugularis* i halsen, men detta är i undantagsfall när *v. cephalica* av någon anledning inte är ett alternativ.

1.1. Syfte

Syftet med studien är att undersöka om det är hygieniskt fördelaktigt att avlägsna pälsen genom rakning före blodprovstagning på hund genom att beräkna antalet bakteriekolonier på rakat respektive orakat ben.

1.2. Frågeställningar

Är det någon hygienisk skillnad att raka eller inte raka vid venös blodprovstagning via *v. cephalica* hos hund, med avseende på antalet detekterbara bakteriekolonier?

Vilka typer av bakterier finns det kvar efter desinficering av stickstället vid rakning respektive utan rakning hos hund?

H0-hypotesen är att det inte är någon statistiskt signifikant skillnad mellan att raka och att inte raka inför en blodprovstagning när blod tas från *v. cephalica*. Hypotesen är att de främst förekommande bakterierna på huden efter spritning kommer vara bakterier ur familjen *Micrococcaceae*, samt att dessa kommer ses detekteras i högre utsträckning på det rakade benet.

1.3. Bakgrund

1.3.1. Hundens normala hudflora

På huden finns det bakterier som är naturligt förekommande och tillhör hudens normalflora. *Staphylococcus* spp. ingår i denna bakterieflora och är bland de vanligast förekommande bakteriegrupperna. Inom denna grupp är *Staphylococcus epidermidis* den vanligaste bakterien i hundens normala hudflora (Bannoehr & Guardabassi 2012; Lavallée et al. 2020). Den bakteriefamilj som utgör den största delen av hårsäckens flora är *Micrococcaceae*, en bakteriefamilj som innefattar många olika underarter, varav vissa är sjukdomsalstrande för både hund och människa (Karolinska Institutet u.å; Messiaen et al. 2019). Vad som anses vara en normal hudflora varierar mellan hundar, till exempel beroende på ras och pälstyp,

men det finns även variationer inom dessa kategorier. Hudfloran kan också se annorlunda ut beroende på var på kroppen provet tas från (Cuscó et al. 2017).

1.3.2. Dermatologiska problem i samband med rakning hos hund

Att klippa eller raka päls på en hund kan orsaka dermatologiska problem och komplikationer, bland annat mikrosår på hudytan (Mitsuishi et al. 2015). Messiaen et al. (2019) utförde en studie på bakterieförekomsten på huden efter rakning med olika storlekar på rakblad, men i artikeln nämns inte vilket märke av rakapparat som användes. Enligt studien var det större risk för bildning av erytem eller kolonisering av bakterier ur familjen *Micrococcaceae* om rakningen skedde med ett rakblad av storlek 40 (0,25 mm i pälslängd efter rakning) jämfört med ett blad av storlek 10 (1,6 mm i pälslängd efter rakning). Med erytem (figur 1) menas en hudrodnad som orsakas av vasodilatation av hudens ytliga blodkärl (Nationalencyklopedin u.å). Att raka pälsen kan alltså orsaka ytliga skador på huden, orsaka förändringar i hudens mikrobiota, såväl som att framkalla slickbeteende av hunden på hudytan. Rakning kan därmed orsaka dermatit och bakteriologiska hudinfektioner (Lavallée et al. 2020).



Figur 1. Erytem orsakat av rakning. Foto: Josefin Lindskog

Sjukdomar som påverkar huden, till exempel atopisk dermatit, kan också ha en inverkan på hudens normalflora. Atopisk dermatit är en vanlig genetiskt predisponerad sjukdom som leder till klåda och inflammation i huden. Klådan som

uppstår kan leda till hudskador då hunden kliar sig, tuggar på huden eller slickar sig intensivt. Detta kan även ge kroniska förändringar i huden (Paterson 2018). En studie gjord av Rodrigues Hoffmann et al. (2014) jämförde hundar med atopisk dermatit med friska hundar, där prover togs från olika delar av kroppen, exempelvis intakt hud och mun. Studien visade att det inte var någon signifikant skillnad på antalet bakterier mellan friska hundar och hundar med atopisk dermatit. Dock observerades det att friska hundar hade ett större antal bakteriearter på huden än hundar med atopisk dermatit, alltså en högre diversitet, men studien gick inte vidare in på vad det kunde bero på.

1.3.3. Tidigare forskning

En studie av Lavallée et al. (2020) utfördes på 13 hundar för undersökning av bakteriekontamination med eller utan rakning inför artrocentres. Studien utfördes genom att hundarna sederades och sedan togs prover bilateralt från huden på carpalleder, armbågsleder, knäleder och hasleder. Hälften av hundarna i studien rakades på höger sida av kroppen och den andra hälften rakades på vänster sida. På den rakade sidan av kroppen var det en 2x2 cm yta som rakades över varje led. Sedan togs prover från alla tidigare nämnda områden för odling av aeroba och anaeroba bakterier. Provtagningsområdena steriltvättades under studien med sterila svabbar med 4 % klorhexidin och sterilt fysiologiskt koksalt under tre minuter, följt av 70 % isopropyl alkohol som fick avdunsta innan provtagning. Efter inkubering av proverna användes MALDI-TOF för identifiering av bakterier. Studiens resultat visade inget samband mellan rakning och lägre bakteriekontamination.

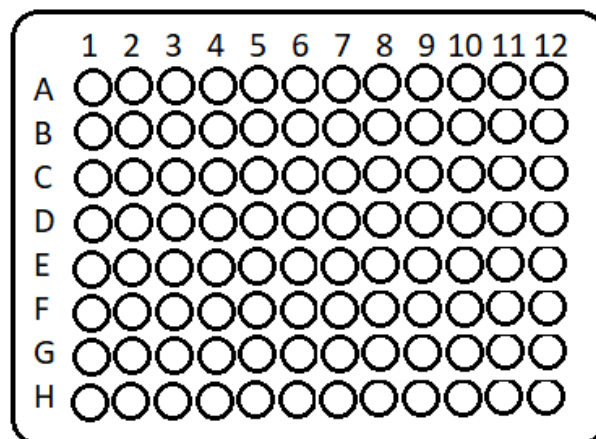
En studie av Fernanda Sargi et al. (2018) utvärderade olika varianter av klorhexidinlösningar för spritning inför bloddonation via *v. jugularis* hos hund. De studerade även om förekomsten av bakterier påverkades av avlägsnandet av pälsen innan provtagningen. Prover togs från 20 friska hundar genom att svabba med sterila tops som saturerats med fysiologiskt koksalt vid två ställen över *v. jugularis*. Proverna kategoriserades efter vilket desinfektionsmedel som användes och om pälsen avlägsnats eller inte. Totalt togs 120 prover under studiens gång. Resultatet i studien visade att spriten hade effekt oberoende av om pälsen avlägsnades eller inte. Slutsatsen baserades på att det inte fanns någon bakterieväxt på någon av proverna som spritats, men bakterieväxt fanns på de prover som inte spritats innan.

1.3.4. MALDI-TOF

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF) är en joniseringsteknik för att identifiera bakterier. En bakteriekoloni från en agarplatta tas upp med en tandpetare och stryks ut på en provplatta (figur 2) med cirkulära rörelser, därefter tillsätts 1µl matrixlösning på

provet som bärarmaterial. Provet bestrålas sedan av laser med UV-ljus vilket innebär att molekylerna i bakterien slås sönder till positivt laddade fragment (jonisering), som slungas iväg mot en detektor. Tiden det tar för fragmentet att nå detektorn (time of flight) mäts. Tiden det tar att nå detektorn jämförs sedan med lagrad data i maskinens databas av kända bakteriearter, vilket resulterar i identifiering av bakterierna från det analyserade provet (VetBact 2020)

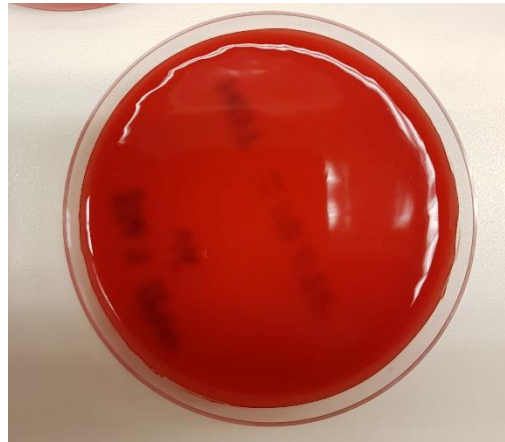
Lagrad data används för att jämföra okända prover genom att räkna ut ett score value (poängvärde), vilket är ett mått på sannolikheten att ett prov representerar en viss art. Ett poängvärde mellan 0,000 och 1,699 innebär ingen matchning till någon bakterie i databasen och MALDI-TOF kan inte identifiera bakterieprovet. Ett poängvärde mellan 1,700 och 1,999 innebär att man kan identifiera vilket släkte bakterien tillhör men inte vilken art. Ett poängvärde mellan 2,000 och 3,000 innebär det att bakterien kan identifieras korrekt när det gäller såväl släkte som art (VetBact 2020).



Figur 2. Schematisk bild av provplattan tillhörande MALDI-TOF.

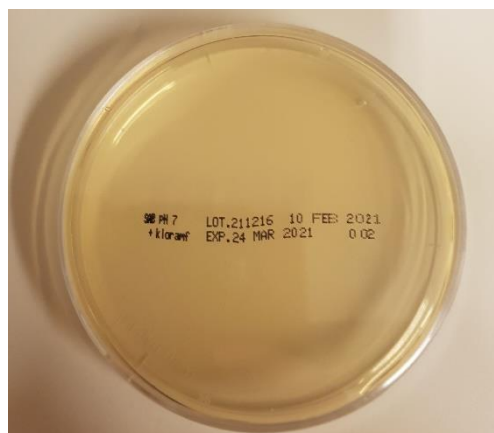
1.3.5. Agar

Blodagar (figur 3) innehåller 5–10 % blod och används bland annat för isolering och odling av aeroba eller fakultativt aeroba bakterier. Den nyttjas till viss del för visuell urskiljning av vissa typer av bakterier. De främst förekommande bakterierna i hundens normalflora odlas med fördel på blodagar vilken inkuberas i 37°C (VetBact 2018; Cooper et al. 2011: 532).



Figur 3. Blodagar. Foto: Linn Ekberg.

Sabouraud agar (figur 4) är ett selektivt odlingsmedium för mögel och jäst, som används för att lägga koncentrationer av dessa vid samtidig förekomst av bakterier skall vara lättare att identifiera (Sandven & Lassen 1999). Sabouraud agar har ett lågt pH (5,6), vilket hämmar växt av många bakterier, och hög glukoshalt vilket är viktigt för växt av svamp. Denna agar inkuberas i 30°C och det makroskopiska utseendet inklusive färgförändringar används för typning av svamp (LaboratoryInfo 2021; Cooper et al. 2011:533).



Figur 4. Sabouraud agar. Foto: Linn Ekberg.

2. Material och metod

Övergripande studiedesign

Studien var experimentell och utfördes under två veckor på 20 hundar på avdelningen för kliniska vetenskaper, SLU 2021. Den första veckan togs prov från fem hundar per dag under tisdagen och onsdagen. Den andra veckan provtogs sex valpar på tisdagen och fyra vuxna hundar på onsdagen. All bakterieodling och analys utfördes på Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BVF).

För att studien skulle kunna genomföras behövdes djuretiskt prövningstillstånd vid studiens försök: SLU-ID: Anläggningstillstånd: Dnr 5.2.18-7454/15. Undervisningstillstånd: Dnr 5.8.18-15533/2018. Användartillstånd: Dnr 5.2.18-2636/15. Undervisningstillståndet inkluderar tillstånd för denna typ av arbete. Eftersom tillstånd redan fanns ansågs inget ytterligare tillstånd från en etisk granskningsnämnd behövas. Detta för att studien ingår i undervisning, hundarna är inte privatägda och inget invasivt ingrepp utfördes.

2.1. Litteratursökning

Sökning av artiklar utfördes genom SLU:s bibliotek och databaserna Google Scholar, Primo, Pubmed, Scopus och Web of science. De artiklar som söktes efter var tidigare forskning inom hygien i samband med avlägsnande av päls inför blodprovstagning.

Sökorden som användes var venipuncture, blood, withdrawal, collection, hygiene, disinfect*, bacteria, dog*, canine, shave och clip*. Sökorden parades ihop med olika sammansättningar och användes för vardera databas.

Resultatet av sökningarna gav ett flertal artiklar som riktade sig till humanvården eller andra djurslag än hund, dock ansågs de flesta av dessa vara utan relevans för denna studie – såsom att de inte berörde hygien eller avlägsnandet av päls.

Sammanställningarna minskades ner till "venipuncture AND dog AND clip*" vilket gav färre artiklar samt två artiklar som liknade upplägget för denna studie.

2.1.1. Hundar

I denna studie användes 20 undervisningshundar av rasen Beagle, tolv tikar och två hanar med åldersspannet 2,5–4 år. Studien inkluderade även sex valpar, varav två hanar och fyra tikar, vilka vid provtagningen var 17 veckor gamla.

Hundarna bodde tillsammans på SLU, i grupp om fyra individer per rum med tillgång till daglig utevistelse via en hundgård i anslutning till rummet. Utöver detta fick de även dagliga promenader. Ingen av hundarna som användes i studien medicinerades eller utsattes för annan behandling. Flertalet hundar hade dock nyligen avslutat behandling mot *Giardia*. Vissa av hundarna var rakade på ett eller båda frambenen sedan tidigare då de deltagit i annan undervisning. Ett par hade även erytem och sår över *v. cephalica* på frambenen, och dessa provtogs då strax proximalt eller distalt om erytemet eller såret.

2.2. Metod

Grundprinciperna för basal vårdhygien följdes under hela processen. Studenternas händer var rengjorda och desinfekterade med handsprit. Munskydd och visir användes för att upprätthålla rekommendationerna för covid-19. Därtill användes handskar av studenterna vid provtagning och vid hantering av prover.

I denna studie kommer orden "rakat" och "orakat" samt "spritat" användas regelbundet. Med rakat menas att päls har avlägsnats med en rakapparat av standardmodell, såsom Aesculap Isis som klipper pälsen till en längd på ca 0,5 mm, och orakat innebär att päls inte avlägsnats på något sätt (Swevet, 2021). Spritat innebär att desinfektion med Klorhexidinsprit 5 mg/ml applicerats med hjälp av en bomullstuss och gnuggats på huden och pälsen under tio sekunder (spritning). Benämningen blodprovstagning refererar till blodprovstagning via *v. cephalica* om inget annat anges.

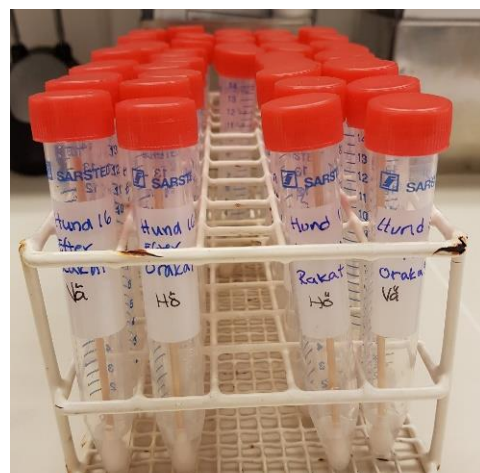
De hundar som var rakade på ena benet rakades om på samma ben för provtagning, och de som var rakade på båda frambenen kontrollerades om något ben var mer eller mindre rakat. Om något av benen bedömdes vara mindre rakat användes detta för provtagning av orakat ben. Provet togs antingen proximalt eller distalt om den rakade ytan beroende på var den tidigare rakningen var lokaliserad. Det andra benet rakades om på samma yta alternativt strax distalt om ytan beroende på om huden var intakt eller inte.

2.2.1. Provtagning

Vid provtagningen höll en av studenterna hunden, medan den andra studenten rakade en 3x2 cm yta över v. *cephalica*, med en rakapparat (Aesculap Isis). Den rakade ytan spritades av, genom att gnugga i tio sekunder med 3 ml Klorhexidinsprit 5 mg/ml (Fresenius Kabi) applicerad på bomull med hjälp av en 5 ml spruta. Mängden klorhexidinsprit valdes genom att 5 ml sprit fylldes i en spruta, som sedan applicerades milliliter för milliliter på en bomullstuss, tills den var ordentligt saturerad med spriten. Bomullstussen var saturerad efter 3 ml sprit. Tiden mellan spritning och provtagning var 30 sekunder. Den sterila topsen (AMIES, Copan innovation, bilaga 1) doppades i ett sterilt 15 ml rör (Falcon, Sarstedt), som innehöll 1 ml fysiologiskt koksalt (BVF, SLU), för att topsen skulle mjukas upp. Plastmallen (bilaga 2) var gjord av propenplast och placerades på det spritade benet (figur 5). Området inom ramen av plastmallen svabbades med den uppblötta topsen med roterande rörelser. Topsen placerades sedan tillbaka i falconröret med fysiologiskt koksalt. Falconröret märktes upp med hundens givna ID för studien (hund #1, hund #2 etc; figur 6), samt om det var från rakat eller orakat ben. Plastmallen spritades av för användning på nästa ben. Processen upprepades sedan på andra benet, av samma student, med undantag för att det benet inte rakades. Rakapparaten rengjordes med ytdesinfektion (DAX) och tandborste (Colgate, Palmolive, USA) innan den användes på nästa hund. Även plastmallen spritades av med ytdesinfektion efter varje användning. Processen upprepades på alla hundar. Inför denna studie bestämdes det att den ena studenten tog alla prover ena dagen och proverna sattes av den andra studenten samma dag. Nästkommande dag byttes rollerna. Hälften av hundarna rakades på höger ben och den andra hälften rakades på vänster ben.



Figur 5. Plastmall, 3x1cm, markerar provtagningsytan. Applicerat för provtagning. Foto: Josefin Lindskog.



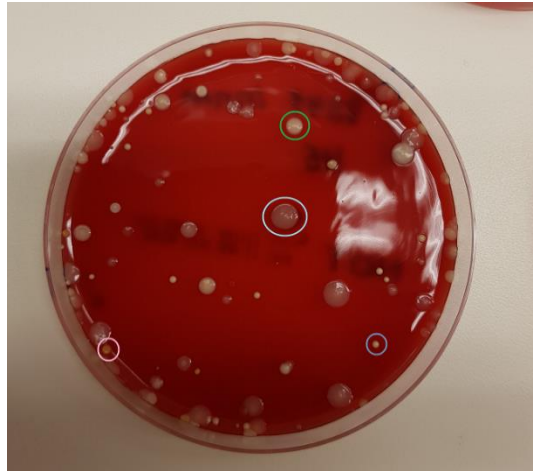
Figur 6. Falconrör märkta med hund ID, före eller efter spritning, orakat eller rakat ben samt höger eller vänster ben. Foto: Linn Ekberg.

Provtagning andra provtagningsveckan

Efter provtagning på de första 10 hundarna anpassades metoden för att öka sannolikheten att få med fler bakterier i samband med provtagning. AMIES tops från Copan innovation byttes ut mot cotton tipped applicator från SELEFA (bilaga 3). Dessutom utökades studien genom att hundarna provtogs även innan spritning, då spritning eventuellt kunde ha större betydelse för vårdhygien än rakning. Utöver det ökades tiden mellan spritning och provtagning av hunden till 60 sekunder, då spriten bedömdes ha avdunstat. Ansågs spriten inte ha avdunstat efter 60 sekunder avvaktades provtagningen ytterligare en tid tills spriten bedömdes ha torkat.

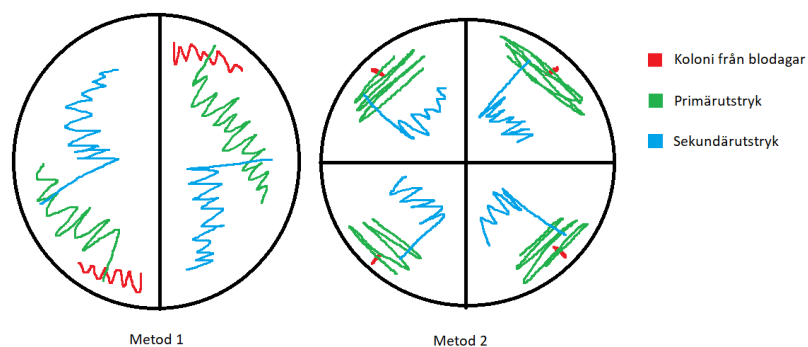
2.2.2. Analys

Efter provtagning märktes två blodagarplattor (SVA, Uppsala) och två sabouraudplattor (SVA Uppsala) för varje hund med de fyra sista siffrorna i hundens chipnummer, samt om provet kom från höger eller vänster ben. Den fysiologiska koksaltlösningen homogeniserades med hjälp av en vortex. Från respektive falconrör togs 0,1 ml av den fysiologiska koksaltlösningen (bilaga 4), och överfördes till en blodagarplatta och 0,1 ml till en sabouraudplatta. Ytspridning gjordes med en steril rackla (bilaga 5), för vardera prov. Blodagarplattorna inkuberades i 37°C under 24 h och sabouraudplattorna inkuberades i 30°C under 120 h eller 144 h. Sabouraudplattorna inkuberades olika länge (120 h eller 144 h) på grund av begränsad tillgång till laboratoriet under helgerna. Eftersom proverna togs under tisdagar och onsdagar innebar detta att proverna kunde läsas av först på nästkommande måndag. Denna begränsning resulterade i att Sabouraudodlingarna satta på tisdagar inkuberades 24 h längre än odlingarna satta på onsdagar. Antal kolonier på blodagarplattorna räknades och noterades visuellt efter 24 h och 48 h. Därefter gjordes renodling av påvisade bakteriekolonier. Vid växt av bakterier med likartat utseende användes endast en koloni från den plattan till renodlingen. Om det fanns kolonier med olika utseenden togs istället en koloni av vardera utseende och en renodling gjordes på dessa (figur 7).



Figur 7. Bakteriekolonier på blodagar inför renodling. De olika färgerna markerar de olika bakteriekolonierna som renodlades från denna platta. Foto: Linn Ekberg.

Vid tveksamhet gällande om kolonierna såg likadana ut togs ett prov från vardera. Renodlingen gjordes genom att halva kolonin togs upp med en engångsplatinös (Sarstedt) och ströks ut på en märkt blodagarplatta. En ny engångsplatinös användes sedan för att utföra ett sekundärutstryk (figur 8; figur 9). I studien användes i regel metod 2, förutom vid de tillfällen då det bara var 2 kolonier att renodla – då användes metod 1 (figur 8). Renodlingarna inkuberades i 24 h i 37°C.



Figur 8. Schematisk bild på tillvägagångssätt av sekundärutstryk. Röd; en koloni tagen med en engångsplatinös och placerats på agarplattan. Grön; ny engångsplatinös används för att sprida ut kolonin, Blå; andra sidan av engångsplatinösen används för att dra igenom och sprida ut utstryket. I studien användes främst metod 2, förutom då det bara var 2 kolonier att renodla – då användes metod 1.



Figur 9. Utstryk för renodling. Foto: Josefin Lindskog.

För att utföra en identifiering av bakterierna användes MALDI-TOF (Bruker Billerica, Massaschusettes, USA). En koloni från vardera renodlad agarplatta togs upp med en tandpetare och placerades med cirkulerande rörelser på angiven plats på en provplatta (Bruker Billerica, Massaschusettes, USA). Varje koloni placerades på två platser på provplattan. I sällsynta fall kunde MALDI-TOF misslyckas att läsa av provet om det var för tjockt lager bakterier. Utifall första provet blev för tjockt lager kunde MALDI-TOF läsa av det andra provet. Det förekom att det första provet var avläsbart medan det andra provet blev för tunt eller inte hade några bakterier kvar. Två prover gjordes direkt och ett uteblivet eller inkomplett resultat undveks. Därefter tillsattes 1µl matrixlösning, HCCA (Bruker Billerica, Massaschusettes, USA) på provplattan. Provplattan placerades i MALDI-TOF och provet analyserades enligt tidigare beskriven metod (se 1.3.4.)

Sabouraudplattorna avlästes visuellt efter 120 h eller 144 h beroende på vilken veckodag inkuberingen av proverna påbörjades.

Analys för prover från den andra veckan

Den andra veckan användes fyra blodagarplattor per hund. Blodagarplattorna märktes med de fyra sista siffrorna i hundens chipnummer, vilket ben provet var taget från, samt om det var provtaget innan eller efter spritning. Proverna sattes enligt samma metod som använts första veckan.

Statistik

Beräkning av statistik gjordes med hjälp av Microsoft Excel. P-värden beräknades med hjälp av ett parat och ensidigt Student T-test, vilket innebär att höger ben jämfördes med vänster ben för varje hund. För jämförelse mellan spritat och ospritat jämfördes varje ben mot sig självt, vilket innebär att hundarna agerade som sin egen kontroll. Alla värden för varje individ skrevs in i Excel för beräkning av p-värde. Värden för rakat ben jämfördes med värden för orakat ben för 24 h respektive 48 h av inkubering. Proverna som togs innan spritning jämfördes med proverna efter spritning. Alla prover som inte visade någon växt av bakterier behandlades som värde 0 vid beräkning med ensidigt, parat student t-test, men inkluderades i analysen.

3. Resultat

I första delstudien kunde bakterier påvisas i prov från de orakade provtagningsställena från två av hundarna, och från det rakade provtagningsstället från endast en hund, efter avläsning efter 24 timmar av prover tagna efter spritning. Från samtliga tre prov påvisades endast en bakteriekoloni. Alla tre kolonierna kom från prov tagna på vänster ben. Resterade 17 prov, efter 24 h, påvisade ingen växt av bakterier (tabell 1). Det växte signifikant färre bakteriekolonier efter spritning jämfört med innan spritning både efter 24 h ($p=0,006$) och efter 48 h ($p=0,009$) inkubering. Totalt var förekomsten av bakterier signifikant lägre efter spritning. Det fanns ingen statistiskt signifikant skillnad i bakterieförekomst mellan rakat och orakat ben, vare sig efter 24 h ($p=0,28$) eller 48 h ($p=0,28$).

Vid typning med MALDI-TOF identifierades främst *Micrococcus luteus* efter spritning. Innan spritning påvisades främst *Moraxella canis*.

Tabell 1 Antalet bakteriekolonier på prov tagna från 10 hundar, odlade på blodagarplattor som avlästes efter 24h och 48h. Prov tagna med AMIES från Copan innovation.

Hund ID	Växt 24h orakat	Växt 24h rakat	Växt 48h orakat	Växt 48h rakat
#1	0 (dx)	0 (sin)	0 (dx)	1 (sin)
#2	1 (sin)	0 (dx) [•]	1 (sin)	0 (dx) [•]
#3	0 (sin)	0 (dx)	0 (sin)	0 (dx)
#4	0 (dx)	0 (sin)	1 (dx)	0 (sin)
#5	0 (dx)	1 (sin)	3 (dx)	1 (sin)
#6	1 (sin)	0 (dx)	1 (sin)	0 (dx)
#7	0 (dx)	0 (sin)	0 (dx)	0 (sin)
#8	0 (sin)	0 (dx)	0 (sin)	0 (dx)
#9	0 (sin)*	0 (dx)	0 (sin)*	0 (dx)
#10	0 (dx)	0 (sin)	0 (dx)	0 (sin)

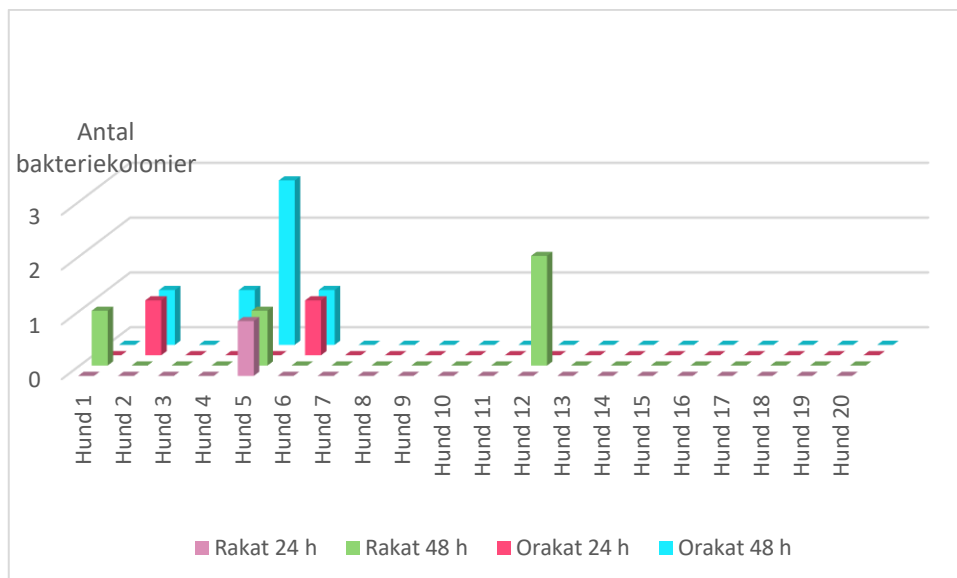
#; Tilldelat ID-nummer för hunden i studien, h; antal timmar mellan påbörjad inkubering och avläsning, rakat; prov taget från rakat ben, orakat; prov taget från orakat ben, växt; antalet bakteriekolonier, (sin); vänster ben, (dx); höger ben, *; sprattlar och behövde spritas om, [•]; erytem.

Vid avläsning efter 48 timmar påvisades bakterier i prov från fyra hundar innan rakning och från två hundar efter rakning (tabell 1). Antalet kolonier per prov med bakterieväxt varierade mellan ett och tre på det orakade benet. På det rakade benet påvisades det därtill endast en koloni på de två proverna. På de resterande 14 proverna, efter 48 h, kunde ingen växt av bakterier påvisas. Efter avläsningar av bakterieodlingarna och analys av dessa, från prover tagna under den första veckan, sågs ingen statistiskt signifikant skillnad i bakterieförekomst vare sig efter 24 h ($p=0,29$) eller 48 h ($p=0,08$).

Tabell 2 Antalet bakteriekolonier på prov tagna från 10 hundar innan och efter spritning, odlad på blodagarplattor som avlästes efter 24 h och 48 h. Prov tagna med cotton tipped applicator från SELEFA

Hund ID	Avläsning efter 24 h				Avläsning efter 48 h			
	Innan; orakat	Efter; orakat	Innan; rakat	Efter; rakat	Innan; orakat	Efter; orakat	Innan; rakat	Efter; rakat
#11	4 (sin)	0 (sin)	1 (dx)	0 (dx)	4 (sin)	0 (sin)	3 (dx)	0 (dx)
#12	1 (dx)	0 (dx)	1 (sin)	0 (sin)	2 (dx)	0 (dx)	1 (sin)	2 (sin)
#13*	0 (sin)	0 (sin)	0 (dx)	0 (dx)	0 (sin)	0 (sin)	1 (dx)	0 (dx)
#14	3 (dx)	0 (dx)	1 (sin)	0 (sin)	4 (dx)	0 (dx)	3 (sin)	0 (sin)
#15	17 (sin)	0 (sin)	2 (dx) [♦]	0 (dx) [♦]	18 (sin)	0 (sin)	4 (dx) [♦]	0 (dx) [♦]
#16	5 (dx)	0 (dx)	0 (sin)	0 (sin)	6 (dx)	0 (dx)	0 (sin)	0 (sin)
#17	21 (sin)	0 (sin)	4 (dx)	0 (dx)	50 (sin)	0 (sin)	7 (dx)	0 (dx)
#18	51 (dx)	0 (dx)	2 (sin)	0 (sin)	106 (dx)	0 (dx)	2 (sin)	0 (sin)
#19	3 (dx)	0 (dx) ¹	16 (sin) [♦]	0 (sin) ^{1♦}	7 (dx)	0 (dx) ¹	33 (sin) [♦]	0 (sin) ^{1♦}
#20	10 (sin)	0 (sin)	6 (dx) [♦]	0 (dx) [♦]	16 (sin)	0 (sin)	22 (dx) [♦]	0 (dx) [♦]

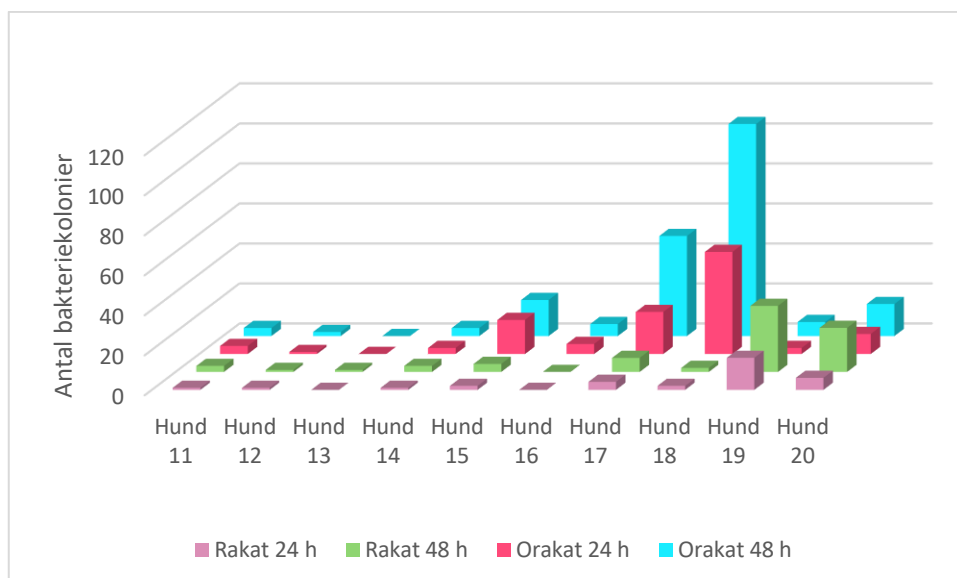
#; Tilldelat ID-nummer för hund i studien, rakat; prov taget från rakat ben, orakat; prov taget från orakat ben, (sin); vänster ben, (dx); höger ben, 1; Hunden sprattlade och behövde spritas om, *; Hunden sprattlade men spritades ej om, [♦]; erytem



Figur 10. Stapeldiagram för prover tagna efter spritning, y-axel; antal bakteriekolonier, x-axel; hund #ID.

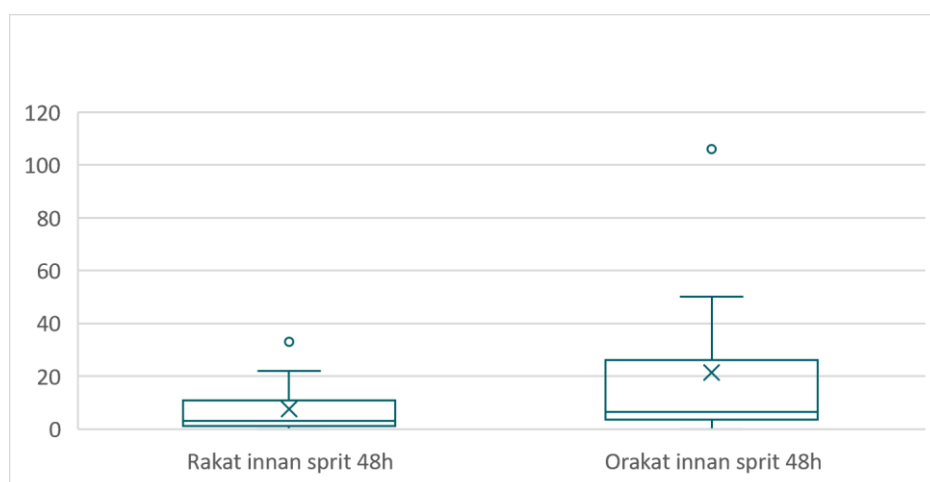
I andra delstudien kunde bakterier påvisas på prov tagna innan spritning från orakade provtagningsställen på nio av hundarna, efter 24 h inkubering (variation 0–51 bakterier per ben). Från det rakade provtagningsstället kunde det påvisas på åtta av hundarna (variation 0–6 bakterier per ben). Medelvärde för antalet kolonier på prover tagna innan spritning var 7,4. Ingen växt av bakterier kunde påvisas efter 24 h, på vare sig rakat eller orakat ben, efter spritning (tabell 2) på prover tagna under den andra veckan (figur 10).

Vid avläsning efter 48 h inkubering kunde bakterier påvisas på prov tagna innan spritning från nio orakade ben (variation 0–106 bakterier per ben), och nio rakade ben (variation 0–33 bakterier per ben) (tabell 2; figur 11; figur 12). Medelvärde för antal kolonier på prover tagna innan spritning efter 48 h var 14,5; medianen för rakat ben var tre och medianen för orakat ben var 6,5. Efter spritning påvisades inga bakterier i prover tagna på orakat ben, medan i prov från rakade ben kunde två kolonier observeras från samma prov. Ingen växt av bakterier sågs på resterande 19 prover tagna efter spritning, efter 48 h.



Figur 11. Stapeldiagram för prover tagna innan spritning, Y-axel; antal bakteriekolonier, X-axel; hund #ID.

Sammantaget på prover tagna under andra veckan med den andra, uppdaterade metoden sågs ingen statistiskt signifikant skillnad mellan rakat och orakat ben innan spritning, vare sig efter 24 h ($p=0,07$) eller 48 h ($p=0,13$) (tabell 2; figur 11). Medianen för antal kolonier på prover tagna innan spritning var 4. Medianen för antal kolonier på prover tagna efter spritning var 0, på rakat och orakat ben samt totalt. Det innebar dock en statistiskt signifikant skillnad när resultatet för prover tagna på spritat ben jämfördes med de som togs från ospritat ben, både efter 24 h ($p=0,006$) och 48 h ($p=0,009$).



Figur 12. Antal bakteriekolonier efter odling på blodagar, prover tagna från tio hundar. x-markeringen visar medelvärdet för antal kolonier på rakat respektive orakat ben. ° visar extremvärden som ligger utanför 10e respektive 90e procentilen. I boxen visas värden mellan den 25e och 75e procentilen.

Efter alla avläsningar av bakterieodlingarna på blodagar, från prover tagna under den andra veckan, utfördes ett ensidigt, parat student t-test på alla prover tagna under båda första och andra veckan (tabell 1; tabell 2). Detta visade totalt en koloni på rakat ben och två kolonier på orakat ben, och ingen växt av bakterier på resterande 37 prover efter 24 h. Vidare visade det totalt fyra kolonier på rakat ben fördelat på 3 prover, och sex kolonier på orakat ben fördelat på 4 prover, samt 33 prover utan tillväxt efter 48 h.

Tabell 3 Resultat av MALDI-TOF-undersökning på renodlad blodagar inkuberad i 24 h, på prov från rakat och orakat ben innan spritning.

Hund ID	Bakterieart på rakat prov	Bakterieart på orakat prov
Hund #11	<i>Streptococcus lutetiensis</i> (2,21) <i>Deinococcus wulumuqiensis</i> (2,33)	<i>Staphylococcus warneri</i> (1,92; 2,05) <i>Streptococcus lutetiensis</i> (2,26; 2,27)
Hund #12	<i>Micrococcus luteus</i> (1,98; 2,39)	<i>Streptococcus lutetiensis</i> (1,75)
Hund #13	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (1,8)	-
Hund #14	<i>Staphylococcus hominis</i> (2,22; 2,06) <i>Bergeyella zoohelcum</i> (1,99; 2,07)	<i>Micrococcus luteus</i> (2,38; 2,34) <i>Streptococcus lutetiensis</i> (2,06)
Hund #15	<i>Micrococcus luteus</i> (2,21; 2,38) <i>Staphylococcus warneri</i> (1,99; 1,9)	<i>Staphylococcus warneri</i> (1,72; 2,01) <i>Staphylococcus hominis</i> (2,35; 2,11)
Hund #16	-	<i>Bachyobacterium conglomeratum</i> (1,98) <i>Enterococcus faecium</i> (2,35)
Hund #17	<i>Moraxella canis</i> (2,19)	<i>Moraxella canis</i> (2,06; 2,09; 1,83)
Hund #18	<i>Moraxella canis</i> (2,19; 2,15)	<i>Moraxella canis</i> (2,07; 2,25; 1,97; 2,07) <i>Trueperella pyogenes</i> (2,06)
Hund #19	<i>Moraxella canis</i> (1,7; 2,49; 2,19)	<i>Moraxella canis</i> (2,1; 1,95)
Hund #20	<i>Moraxella canis</i> (2,13)	<i>Bacillus simplex</i> (1,98; 1,92) <i>Rothia Nasimurium</i> (1,92; 2,17) <i>Micrococcus luteus</i> (2,08)

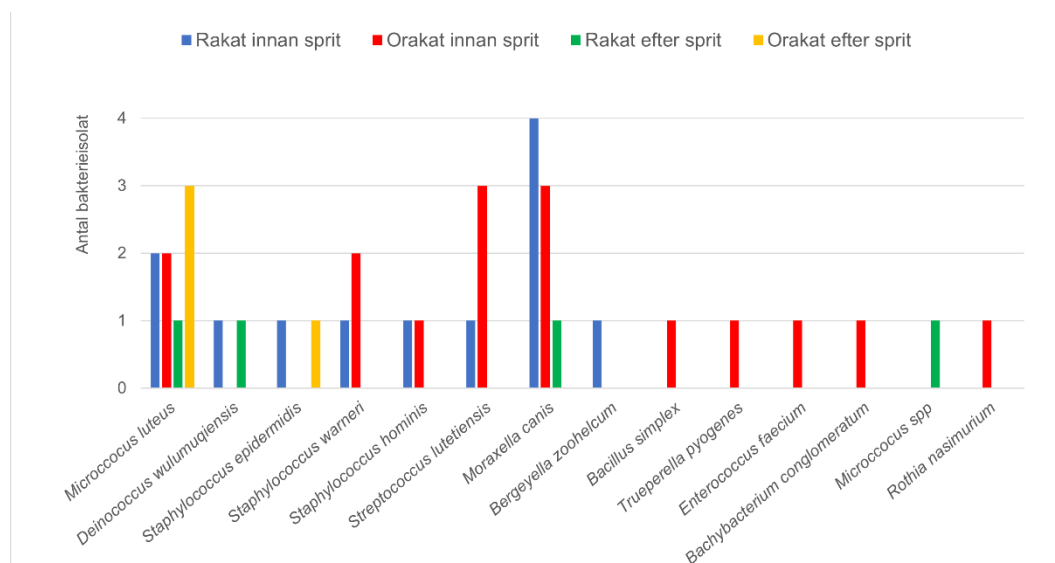
Bakterietyp; Typning av förekommen bakterie på prov med hjälp av MALDI-TOF, rakat; prov taget från rakat ben, orakat; prov taget från orakat ben, #; tilldelat ID-nummer för hund i studien, -; MALDI-TOF har ej utförts på provet på grund av otillräcklig växt av bakterier, (a; b); poängvärde från MALDI-TOF

Renodling gjordes på sju av 40 prover tagna efter spritning. Vid typning med MALDI-TOF identifierades *Micrococcus luteus* från fyra prov (57 %). Vidare påvisades enstaka förekomst av *Deinococcus wulumuqiensis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Moraxella canis* samt en bakterie tillhörande *Micrococcus* spp. vilken inte kunde typas till speciesnivå (bilaga 6; bilaga 7).

Vid renodling (figur 13) av 27 bakterier från 20 prover tagna innan spritning påvisades sex bakterier tillhörande *Staphylococcus* spp. varav tre *S. warneri*, två *S. hominis* och en *S. epidermidis*. Utöver dessa påvisades fyra *Streptococcus lutetiensis*, sju *Moraxella canis* samt fyra *Micrococcus luteus* (figur 14). Fem av isolaten kunde dock inte typas med hjälp av MALDI-TOF (tabell 3).



Figur 13. Renodling av fyra kolonier på blodagarplatta. Foto: Josefin Lindskog.



Figur 14. Bakteriearter identifierade av MALDI-TOF. Y-axeln visar förekomst av bakterieisolat från alla renodlingar. X-axeln visar bakterieart.

Ingen växt av svamp påvisades på sabouraudagar vare sig på prov från rakat eller orakat ben (bilaga 8). Provtagningen genomfördes utan problem, med undantag för ett metodbyte som genomfördes efter första veckan. Därtill observerades erytem efter rakning på tre av hundarna under provtagningarna (hund #2, hund #15 och hund #20; tabell 1; tabell 2), samt en hund som redan hade erytem och sår från tidigare rakning (hund #19; tabell 2). Ingen variation i resultatet observerades beroende på vilken student som tagit provet. Detsamma gällde när samma student gjorde provsättningen.

4. Diskussion

Resultatet för denna studie visade att det var en signifikant skillnad mellan prover tagna innan och efter spritning, men ingen skillnad kunde påvisas mellan rakade och orakade ben. Nollhypotesen för denna studie var att det inte skulle vara någon signifikant skillnad mellan att raka och inte raka inför blodprovstagning via *v. cephalica*. Detta visades genom riklig växt av bakterier på både rakat och orakat ben innan spritning, samt sparsam växt på prover tagna efter spritning från både rakat och orakat ben. Det faktum att ingen växt av svamp påvisades, vare sig innan eller efter spritning, innebär att studien inte kan användas för att dra en slutsats om hur väl sprit avdödade eventuella svampar eller dess sporer på huden. Utifrån dessa resultat kan därmed nollhypotesen inte förkastas. Den slutsatsen kan dock inte tas som sanning för individer utöver de korthåriga Beaglar som användes i denna studie. Det går heller inte att bekräfta nollhypotesen generellt för alla hundar.

Tidigare studier har påvisat att rakning kan orsaka ett antal problem, såsom erytem och slickdermatit (Lavallée et al. 2020; Mitsuishi et al. 2015; Messiaen et al. 2019). Av den anledningen kan det ibland anses vara fördelaktigt att inte raka vid blodprovstagning. Detta gäller framför allt patienter som är predisponerade för hudproblem, exempelvis Schäfer och Golden retrievers vilka är vanligt förekommande allergipatienter (Jaeger et al. 2010). Det kan även anses vara fördelaktigt att undvika rakning på patienter som tidigare haft problem med slickdermatit, eftersom rakning då skulle kunna orsaka ett återfall av detta, eller effekter orsakade av rakning. Däremot visar studiens resultat inte heller att det skulle vara mindre hygieniskt att raka, och av den anledningen kan rakning anses vara frivilligt inför en blodprovstagning via *v. cephalica*, i alla fall för korthåriga hundar med liknande pälstyp som Beagle. För- och nackdelar bör vägas för varje patients individuella förutsättningar, samt huruvida den som utför blodprovet föredrar det ena eller andra.

4.1. Metoddiskussion

Intra- och inter-tester reliabilitet kontrollerades genom att se om det växte mer eller mindre beroende på vilken dag provet togs. Resultatet från denna studie visade god intra- och inter-tester reliabilitet då resultatet inte påverkades av vem som tagit provet, och inte varierade när samma student tog proverna. Resultatet skilde sig inte heller när samma student genomförde MALDI-TOF på två prover från samma renodling. Det bör tas i åtanke att endast två studenter deltog i provtagning och provsättning, vilket betyder att trots att god inter- och intra-tester reliabilitet observerats är det endast baserat på två individer och därför inte helt generaliserbart.

Material

Plastmallen valdes då materialet (propenplast) var lätt att sprita av och hålla rent. Mallen användes främst för att se till att provet togs från en lika stor yta på varje individ. Dessutom hjälpte mallen att hålla undan ospritad päls, kunde lätt böjas för att få ett grepp normalt att använda vid blodprov och visade visuellt var det var spritat även på det orakade benet. Om mallen höll undan den ospritade pälsen skulle det i teorin kunna vara så att en kontaminering som hade skett i verkligheten, där ingen plastmall används, förhindrades i studien. Av denna anledning kan det vara av intresse att i framtida studier ta prover utan mall och avgränsa provtagningsområdet på annat sätt, för att se om eventuell kontamination sker. Ett alternativ skulle vara att raka runt området som skall spritas, för att markera ytan som är spritad. Plastmall eller liknande skulle även kunna användas för att visa hur stor yta som skall rakas, men inte användas vid själva provtagningen.

Under hela processen användes munskydd och handskar, för att följa Folkhälsomyndigheten samt Socialstyrelsens restriktioner och rekommendationer om basal vårdhygien och covid-19. Rekommendationerna från Folkhälsomyndigheten konstaterade att i miljöer där det var oundvikligt med nära kontakt under en längre tid, var användning av munskydd av värde för de födda innan 2004 (Folkhälsomyndigheten 2021; Region Uppsala 2021). Socialstyrelsens föreskrifter påtalade att skyddshandskar skulle användas om det fanns risk för kontakt med kroppsvätskor och att dessa handskar skulle vara för engångsbruk (SOSFS 2015:10). Visir ansågs av studenterna endast vara nödvändigt att använda under provtagningarna eftersom studenterna stod väldigt nära varandra, medan det gick bra att hålla avstånd på laboratoriet. Munskydd användes under provtagning och även på laboratoriet då det var de restriktioner som gällde där. Detta bör också tas i åtanke vid tolkning av resultat, eftersom munskydd och visir inte normalt förekommer vid blodprovstagning. Man kan teoretisera att det finns en kontaminationsrisk från utandningsluften vid ett normalt blodprov som inte finns

med i denna studie. Handskar användes dels med avseende för covid-19 då enstaka fall har påvisats där smittan sprids genom djurkontakt (Folkhälsomyndigheten 2020). Dessutom skall handskar användas vid blodprovstagning enligt basal vårdhygien, på grund av risken för kontakt med kroppsvätska (SOSFS 2015:10). Därför användes även handskar under denna studie, för att efterlikna verkligheten så gott som möjligt under förutsättningarna som fanns.

I studien användes Sabouraud agar för detektion av svamp, men inga svampar påvisas från proverna. Det kunde bero på att ingen av hundarna hade någon svamp i sin normalflora, eller var kontaminerade av dessa. Det kunde också bero på att hundarna nyligen behandlats mot *Giardia* med Axilur. Behandlingen innebar skärpta hygienrutiner och noggrann städning av hundstallarna under behandlingen. Detta skulle kunnat innebära att det fanns en lägre risk att hundarna kontaminerades, eller utsattes för bakterier eller svampar som inte förekom naturligt i deras hudflora, än under normala omständigheter. Eftersom hundarna används i utbildningen var vissa redan rakade och studenterna var då tvungna att anpassa vart det rakades och proverna togs. Provtagningsställena kunde då variera med några centimeter proximalt eller distalt på benet, vilket skulle kunna vara en felkälla eftersom normalfloran kan variera beroende på vart ifrån ett prov tas (Cuscó et al. 2017). Flera av hundarna rakades dessutom av studenterna trots att de var tydligt nyrakade, för att se till att det var så nyrakat som möjligt. Om hundarna rakats och spritats nyligen för undervisning kunde det innebära att de hade färre bakterier på benen eftersom alla bakterier nyligen avdödats.

Inför studien diskuterades vilka typer av hundar som skulle användas. Det talades om olika päslängd, prevalens av hudproblem inom raser, korta eller långa ben, samt även om arbetet skulle inkludera katter. Utöver detta diskuterades även hundar som levde i olika miljö som eventuellt skulle kunna ha olika naturlig mikrobiota. Därutöver diskuterades även om hundar som skulle in för operation vid universitetsdjursjukhuset (UDS) kunde användas eftersom dessa ändå skulle rakas före kanylläggning, och det skulle ge en större variation än undervisningshundarna. Då ett kandidatarbete har begränsad tid och resurser ansågs det vara för stort att kategorisera hundar med olika päslängd och livsstil. Dessutom var det osäkert om studien kunde utföras på UDS på grund av pågående pandemi. I slutändan bestämdes det att endast Beaglar som ägs av SLU skulle användas eftersom de lever tillsammans, i samma miljö, är av samma ras och dessutom vana att hanteras i en klinisk miljö. Det bedömdes därför att de passade bäst i en studie av denna storlek, för att eventuella skillnader i växt av bakterier inte skulle kunna bero på olika livsmiljö eller andra förutsättningar som nämnts ovan. För att kunna applicera resultatet till en verklighet på en klinik behövs ytterligare studier som undersöker olika raser, pälstyper och päslängder samt även andra djurslag såsom katt och häst.

Vidare var även könsfördelningen i studien ojämn, med ett övervägande antal tikar gentemot hanar. Urvalsgruppen var därmed begränsad.

Metod

Eftersom agarplattorna inte märktes med om provet var från rakat eller orakat ben ansågs studien vara blindad. Eftersom olika ben rakades på olika individer visste inte den som läste av odlingarna om provet kom från rakat eller orakat ben, vilket minimerade risken för bias vid bedömning av proverna. Trots detta skulle studenterna i teorin ha kunnat komma ihåg siffrorna och vilket ben hunden rakades på. Ett alternativ till denna metod skulle kunnat vara att en utomstående hade räknat kolonierna innan studenterna, då en utomstående inte varit delaktig i provsättningen och därför inte skulle kunnat minnas siffrorna. Ett annat alternativ skulle varit att studenten som satt proverna den ena dagen inte var delaktig i räkningen av kolonierna dagen efter. Dock upplevdes det inte vara ofta studenterna räknade olika antal kolonier, och de få gånger det förekom varierade det bara med några enstaka få kolonier. Detta trots att den ena studenten satt alla proverna för en dag, och alltså var den enda som skulle kunnat komma ihåg siffrorna. Därför anses detta bias inte vara troligt att ha förekommit. Eftersom proverna däremot märktes med spritat eller ospritat skulle en mindre skillnad i resultat mellan dessa kunna anses vara en felkälla. Dock var skillnaden i resultatet väldigt stor i denna studie och därför anses denna felkälla inte relevant för detta resultat.

Odlingarna påbörjade första veckan hade oftare mer växt av bakterier på vänster ben jämfört med höger ben (tabell 1; tabell 2), oberoende av om det var rakat eller orakat. En tänkbar förklaring kan vara att båda studenterna var högerhänta. Därmed kan det eventuellt provtagits med en ofördelaktig vinkel som skulle kunnat resultera i kontamination från päls utanför det spritade området. Det skulle även kunna bero på att hundarna satt riktade åt samma håll vid provtagning och studenterna stod alltid på samma sida, vilket eventuellt skulle ha kunnat resultera i ofördelaktiga vinklar för provtagning på vänster ben. Under provtagning upplevdes ingen skillnad vid provtagning från höger respektive vänster ben. Inte heller registrerades problem med utrustning eller åtkomsten för provtagning som skulle kunnat orsakas av att studenterna var högerhänta. Det innebär inte att det inte är en möjlig orsak till den skeva fördelningen av bakterietillväxt mellan höger och vänster ben. Tidigare studier på problematik orsakad av att en sjukvårdare är höger- eller vänsterhänt är begränsad, men en studie av Pasinlioglu (2003) fann att en lägre andel av de vänsterhänta sjuksköterskestudenterna uppnådde högsta betyg på de praktiska examinationerna än deras högerhänta medkursare. En annan studie av Al-Johany (2013) undersökte huruvida vänsterhänta tandläkarstudenter upplevde att deras vänsterhänthet var ett hinder under deras praktik. Där uppgav 80 % att de använde utrustning anpassad för högerhänta, trots att 84,5 % av studenterna även uppgav att

de skulle ha lättare att utföra sina arbetsuppgifter om utrustningen anpassades till vänsterhänta.

Studiens metod liknar de som använts i tidigare studier med liknande frågeställningar (Lavallée et al. 2020; Fernanda Sargi et al. 2018). Det resultat som framkommit i denna studie överensstämmer även med resultat från tidigare studier (Ibid). På grund av detta bör resultat tolkas med försiktighet då det kan förekomma eventuella felkällor, relaterat till denna metod, som inte upptäckts men skulle kunna ha en påverkan på resultatet. Det innebär även högre reliabilitet för tidigare studier samt denna studie eftersom metoden använts igen och resultaten överensstämde (Ibid). I framtiden bör andra metoder användas för att testa validiteten för denna metod och även se om resultaten fortfarande överensstämmer. I studien togs även bara prover på framben och vidare studier behövs för att kunna konstatera om resultatet är detsamma för prover tagna via till exempel *v. saphena* eller *v. jugularis*.

Metodbyte

Metoden ändrades efter första veckan och därmed ändrades hälften av provtagningarna. Anledningen till bytet var att det visade mycket liten eller ingen växt av bakterier från proverna som tagits under den första veckan. AMIES-topsarna var av en vek plast som inte gav möjlighet att pressa ner topsen ordentligt på huden utan att topsen böjde sig, vilket ansågs kunna vara en anledning till den sparsamma växten av bakterier under första veckan. De valdes bort och ersattes av en stabilare tops. Den sparsamma växten ansågs också kunna bero på att spriten inte fått torka ordentligt innan provtagningen, vilket skulle kunnat resultera i att spriten sögs upp av topsen och därmed följde med på bakterieodlingarna och på så sätt förhindrat växt av bakterier. Det beslutades därmed att spriten skulle få god tid att torka innan provtagning. En källa för hur lång tid det tar sprit att avdunsta har sökts under arbetet men inte hittats. Det kan antas att torktiden påverkas av många olika faktorer, såsom mängden sprit, omgivningstemperatur samt pälskvalité och pälslängd. Vidare togs även prover innan spritning under den andra veckan, dels för att se vilka bakterier som fanns på ytan innan spritning, dels för att se hur mycket det växte från proverna. Hur mycket som växte från proverna var av intresse, då en sparsam växt från prover tagna innan spritning kunde tyda på att provtagningsmetoden förhindrade bakterieväxt. Förändringen i metod skulle dock kunna anses vara en felkälla i studien, eftersom det innebär att det skulle kunna tolkas som två olika utföranden och därmed halveras urvalsgruppen. Eftersom resultatet blev detsamma även efter metodbyte bedöms dock inte detta ha påverkat resultatet.

Efter metodbytet påvisades färre bakterier från prover tagna efter spritning. Detta skulle kunna vara en korrekt representation av bakterieförekomsten, men det skulle

även kunna bero på att spriten hunnit avdödat de sista bakterierna när den fått torka ordentligt, eller på att de vekare AMIES-topsarna var så pass svåra att kontrollera att de vid vissa tillfällen kunde snudda utkanterna av det spritade området – och då få med bakterier utanför området. Klorhexidin har effekt efter redan 30 sekunder, vilket borde innebära att den minskade bakterietillväxten inte berodde direkt på att klorhexidinet inte hann avdöda bakterierna innan förändringen i metoden (Läkemedelsverket 2015). Dock kvarstår risken att spriten inte hann avdunsta och därmed kom med på topsen och förhindrade bakterieväxten.

Metodbytet genomfördes mitt under studiens gång, med mer än en faktor som förändrades samtidigt. Både topsarna och tiden som spriten fick torka anpassades på samma gång, vilket innebar att det inte var möjligt att konstatera om en eventuell skillnad i resultatet hade orsakats av det ena eller det andra bytet. I studien observerades dock ingen påverkan på resultatet efter metodbytet, vilket kan anses innebära att metodbytet inte hade någon effekt på studiens resultat. Dock bör man i framtiden ha i åtanke att om studieupplägget eller metoden behöver förändras, på grund av eventuella brister i dessa, bör förändringarna ske stegvis, för att undersöka varje enskild förändring för sig. Det var inte möjligt i denna studie på grund av begränsad tid och ekonomi.

4.2. Resultatdiskussion

Raka eller inte

Den första veckan observerades totalt två kolonier på prov från rakat ben och sex kolonier på prov från orakat ben, skillnaden var inte statistiskt signifikant ($p=0,29$ efter 24 h och $p=0,08$ efter 48 h). Det var inte heller någon signifikant skillnad i bakteriemängden efter 48 h, men antalet prover var för få för att kunna dra några säkra slutsatser. Av de sex kolonier som växte i prov från orakat ben var det tre kolonier från samma platta. Detta innebar att det skulle kunna vara en felkälla orsakat av en eventuell kontaminering av just detta prov. Baserat på detta skulle det även kunna anses som att urvalsgruppen inte var orsaken till avsaknaden av en signifikant skillnad, utan att resultatet är representativt för urvalsgruppen trots dess begränsade storlek. Växt av bakterier sågs främst på prover tagna under den första veckan med den första metoden, vilket skulle kunna tolkas som att den första metoden var bristfällig. Med detta i åtanke kan det även anses att urvalsgruppen var ännu mindre, eftersom det främst sågs på prover tagna med den första metoden, alltså på sex odlingar av 20 snarare än de totala 40 odlingarna som sattes på alla proverna. Resultatet av den andra provtagningsomgången påvisade bakterier på endast en platta med två kolonier från rakat ben efter spritning efter 48 h. För att få ett större urval av prover sammanfördes proverna från första och andra metoden.

Efter 48 h sågs ingen statistiskt signifikant skillnad mellan rakat och orakat ben ($p=0,28$). Baserat på detta resultat kan en slutsats dras om att det inte är någon skillnad att raka eller inte raka inför ett blodprov. Detta stämmer överens med tidigare studier som gjorts för signifikans av rakning innan spritning, trots att dessa gjorts på andra ytor än över *v. cephalica* (Lavallée et al. 2020; Fernanda Sargi et al. 2018). Dock är det inte möjligt att bekräfta en nollhypotes, även om denna studie inte påvisade en signifikant skillnad, och resultatet kan inte generaliseras. Resultatet kan tolkas som att det inte spelar någon roll, men det kan inte påstås vara bevisat att det inte finns någon hygienisk skillnad mellan att raka och inte raka inför ett blodprov.

Eftersom rakning i tidigare studier även visats kunna orsaka små sår på hudytan skulle en tidigare rakning även kunna innebära fler bakterier på huden, då bakterier växer bra på blod (Mitsuishi et al. 2015). Denna studies resultat visade dock ingen högre bakterieförekomst på de hundar som uppvisade erytem eller spår av blod på huden. Eftersom vissa hundar även spritades två gånger innan provtagning på grund av att de sprattlat, och eventuellt kontaminerat provtagningsytan, kunde resultatet ha påverkats av detta då de totalt spritades med mer sprit. Dock visar resultatet ingen växt efter spritning på dessa hundar eller några andra från samma provtagningsstillfälle. Därmed anses resultatet vara opåverkat av att provtagningsytorna spritats två gånger. Ingen uppföljning gjordes på hundarna efter provtagning, så eventuellt senare uppkomna reaktioner från rakning har inte kunnat observerats. I vidare studier skulle detta kunna anses fördelaktigt för att utvärdera hur pass stor skillnad det gör att raka eller inte raka, för djurets välmående, uppkomst av dermatit, provtagarens kunskap och begränsningar, samt för förhindring av smitta och högsta möjliga patientsäkerhet.

Sprita eller inte

Resultatet för prover tagna innan spritning visade att bakterieväxten inte hämmades av inadekvat material eller metod, eftersom det växte signifikant fler bakterier på prover tagna innan spritning än efter ($p=0,006$ efter 24 h och $p=0,009$ efter 48 h). Dock garanterade inte detta att felkällan med att sprit fanns kvar på topsen inte längre var en risk, eftersom kontrollproverna togs innan spritning.

Växten av bakterier jämfördes även innan och efter spritning för att kontrollera om det skiljde sig beroende på om det var rakat eller inte rakat. Beräkningen utfördes genom att alla prover innan spritning jämfördes med prover från samma individ tagna efter spritning, med ett ensidigt, parat student T-test. Det visade en statistisk signifikant skillnad för att sprita ($p=0,006$ efter 24 h och $p=0,009$ efter 48 h). Enligt resultatet i denna studie skiljer det sig inte mellan att raka och inte raka vid blodprovstagning. Att sprita är dock en viktig del för god hygien inför ett blodprov

baserat på detta resultat. Innan spritning fanns en stor andel bakterier på huden, dock påvisades fler på det orakade benet. Hundars päls agerar som en barriär för smuts och bakterier och när den rakas bort kan det antas att en stor andel bakterier försvinner (Fernanda Sargi et al. 2018). Dessa bakterier hade annars funnits på huden om hunden inte haft päls.

Bakterietypning

Typning med hjälp av MALDI-TOF visade att *Micrococcus luteus* var den mest förekommande bakterien efter spritning (57 % av typningarna). Innan spritning var *Moraxella canis* oftast förekommande, följt av *Staphylococcus* spp. Resultatet visade också att spriten avdödade alla *Moraxella canis* och alla *Staphylococcus* spp. förutom *S. epidermidis*. Dock påvisades en *Moraxella canis* på hund nr 12 efter spritning som inte påvisades innan spritning. Det kunde tyda på att de *Micrococcus luteus* och *Streptococcus lutetiensis* som påvisades på hund nr 12 innan spritning hade vuxit över de *Moraxella canis* som troligtvis fanns där.

Hypotesen var att fler bakterier ur familjen *Micrococcaceae* skulle finnas efter rakning, då detta skulle kunnat stimulera hårsäckarna att öppnas på grund av den alstrade värmen från rakapparaten. Resultatet visade dock att flest *Micrococcaceae* fanns på orakat ben efter spritning. På orakat och spritat ben var 75 % av proverna *Micrococcaceae*, på rakat och spritat ben påvisades *Micrococcaceae* från 50 % av proverna. Den högre förekomsten skulle kunna bero på att pälsen bibehåller värme, eller för att huden vid spritning gnuggades med den spritade bomullstussen. Gnuggandet kunde antingen ha alstrat värme eller resulterat i att det översta hudlagret avlägsnats, vilket förde topsen närmre hårsäckarna vid provtagning.

Poängvärdena för resultatet av utförd MALDI-TOF var till stor del över 1,999 (67 %), vilket innebär att dessa prover med stor sannolikhet hade identifierats korrekt efter släkte och art. Viktigt att ha i åtanke är också att 27 renodlingar gjordes på prover tagna innan spritning, och på varje renodling utfördes två MALDI-TOF. Detta innebar att totalt utfördes 54 MALDI-TOF-typningar, varav 5 prover inte kunde typas med säkerhet. De höga poängvärdena i resultatet tyder på att en korrekt avläsning gjorts med hjälp av MALDI-TOF och att det är representativt för urvalsgruppen. Då en koloni fördelades på två platser på provplattan för MALDI-TOF minimerades risken att det blev ett för tjockt lager av bakterier på det andra provet. I de fall där båda proverna kunde läsas av innebar det en säkerställning att den första avläsningen var pålitlig, eftersom den andra då bekräftade resultatet.

Staphylococcus spp. har i tidigare studier visats vara en vanlig hudbakterie (Bannoehr & Guardabassi 2012; Lavallée et al. 2020). Bakterier ur familjen *Micrococcaceae* har även visats vara de främst förekommande bakterierna i

hårsäckens bakterieflora (Karolinska Institutet u.å; Messiaen et al. 2019). Baserat på detta och resultatet i denna studie som visar detsamma kan det tolkas som att proverna som tagits inte kontaminerats, utan är en korrekt representation av vilka bakterier som fanns kvar på huden efter spritning.

Tidigare studier på människa har visat att olika kön och livsmiljöer har en påverkan på en individs mikrobiota, vilket innebär att det finns en möjlighet att sprit är mindre effektivt på vissa individer som uppvisar en annan mikrobiota (Grice & Segre 2011). I teorin skulle detta kunna innebära att vissa individer har större andel tåliga bakterier. Eftersom hundarna hölls av SLU som verktyg för utbildning hade de heller inte samma vardagskontakt med människor som en familjehund har. Tidigare studier har även visat att hundar och människor som lever tillsammans också delvis delar en mikrobiota (Song et al. 2013). På grund av detta kan det antas att familjehundar har en högre förekomst av bakterier som är mer prevalenta hos människor än de hundar som använts i denna studie (Ibid).

Slutsatsen från denna studie är att det är ingen skillnad hygienmässigt att raka eller inte raka inför ett blodprov så länge det spritas, åtminstone för denna urvalsgrupp. Resultaten visar dock en tydlig skillnad mellan att sprita och inte sprita. Rakning kan anses fördelaktigt för visuell lokalisering av *v. cephalica*. Denna studie har heller inte påvisat att det skulle vara en nackdel att raka, ur hygiensynpunkt. Studien visade också att den vanligaste bakterien innan spritning var *Moraxella canis* och efter spritning var *Micrococcus luteus*.

5. Konklusion

I studien kunde ingen skillnad påvisas mellan att raka och inte raka inför ett blodprov taget över *v. cephalica*. Däremot konstaterades vikten av spritning för att bibehålla en god vårdhygien. Detta innebär att rakning, enligt denna studie, inte var en avgörande del för hygien vid blodprovstagning, men att spritning var det. Efter spritning fanns det främst kvar bakterien *Micrococcus luteus*, men även dessa påvisades sällan då spriten avdödade nästintill alla bakterier.

Hypotesen att bakterier ur familjen *Micrococcaceae* skulle vara de vanligast förekommande bakterierna efter spritning stämde, dock stämde det inte att det skulle förekomma fler av dessa på det rakade benet. Nollhypotesen att det inte skulle vara någon statistiskt signifikant skillnad att raka eller inte raka inför blodprovstagning gick därmed inte att förkasta.

Urvalsgruppen i denna studie var kraftigt begränsad och homogen. Vidare studier behövs för att utvärdera effekten av rakning på hundar med exempelvis olika ras, pälsstyp, ålder, och livsmiljö. Förberedelserna inför blodprovstagning bör individanpassas ut efter varje patients behov. Att raka inför blodprovstagning på korthåriga hundar via *v. cephalica* kan, utefter denna studie, därmed anses vara frivilligt.

6. Referenser

- Bannoehr, J., Guardabassi, L. (2012). *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Veterinary Dermatology*. 23 (4), 253-e52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01046.x>
- Brown, C (2014). Administration of Fluid Therapy. I: Aspinall, V (red.) *Clinical Procedures in Veterinary Nursing*. Oxford: Butterworth Heinemann Elsevier. 71.
- Cooper, B., Mullineaux, E., Turner, L., Greet, T. (red.) (2011) *Textbook of Veterinary Nursing*. 5 uppl., Gloucester: BSAVA. ISBN 978-1-905319-26-8
- Cuscó, A., Sánchez, A., Altet, L., Ferrer, L., Francino, O., (2017). Individual signatures define canine skin microbiota composition and variability. *Frontiers in Veterinary Science*. 4, 6. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00006>
- FASS Allmänhet. (u.å.) Klorhexidinsprit Fresenius Kabi. <https://www.fass.se/LIF/product?userType=2&nplId=19850201000037> [2021-02-17]
- Fernanda Sargi, L., Reis Martins, R., Eugênio Luz, P., Yuki Tanaka, C., De Padua Pereira, U., Mendes Pereira, P. (2018). Skin antiseptics protocols for the collection of blood from donor dogs. 48 (5). *SciELO* <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170505>
- Folkhälsomyndigheten (2020). *Smitta från och till djur*. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittskydd-beredskap/utbrott/aktuella-utbrott/covid-19/om-sjukdomen-och-smittspridning/smittspridning/smitta-fran-och-till-djur/> [2021-03-08]
- Folkhälsomyndigheten (2021). *Munskyddsanvändning i samhället utanför vård- och omsorg*. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittskydd-beredskap/utbrott/aktuella-utbrott/covid-19/om-sjukdomen-och-smittspridning/smittspridning/munskydd/> [2021-03-07]
- Grice, E.A., Segre, J.A. (2011). The skin microbiome. *Nature reviews microbiology*. 9, p 244–253. <https://www.nature.com/articles/nrmicro2537> [2021-04-02]
- HSLF-FS 2021:13. *Folkhälsomyndighetens föreskrifter och allmänna råd om allas ansvar att förhindra smitta av covid-19 m.m.* Stockholm: Folkhälsomyndigheten

- Jaeger, K., Linek, M., Power, H.T., Bettanay, S.V., Zabel, S., Rosychuk, R.A.W., Mueller, Ralf S. (2010). Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. *Veterinary Dermatology*. 21 (1), p. 119-123. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00845.x>
- Karolinska Institutet. Micrococcaceae.
<https://mesh.kib.ki.se/term/D008835/micrococcaceae> [2021-04-17]
- Lavallée, J., Shmon, C., Beaufrère, H., Chirino-Trejo, M., Linn, K (2020). Influence of clipping on bacterial contamination of canine arthrocentesis sites before and after skin preparation. *Veterinary Surgery*. 49 (7), 1307-1314. <https://doi.org/10.1111/vsu.13468>
- LaboratoryInfo (2021). *Sabouraud dextrose agar (SDA) – Composition, Principle and Uses*. <https://laboratoryinfo.com/sabouraud-dextrose-agar-sda/> [2021-06-02]
- Läkemedelsverket (2015). *Klorhexidinsprit, Fresenius Kabi 5 mg/ml kutan lösning*. [Produktresumé].
https://docetp.mpa.se/LMF/Klorhexidinsprit%20f%C3%A4rgad%20Fresenius%20Kabi%20cutaneous%20solution%20SmPC_09001bee807a4c6e.pdf [2021-04-17]
- Messiaen, Y., MacLellan, J., Pelsue, H. (2019). Evaluation of the number of colony forming units on the skin of dogs after clipping the hair with two sizes of clipper blades. *American Journal of Veterinary Research*. 80 (9), 862-867. <https://doi.org/10.2460/ajvr.80.9.862>
- Mitsuishi, M., Oshikata, T., Kumabe, S., Kobayashi, A., Katoku, K., Kanno, T., Hamamura, M., Tsuchitani, M., (2015). Histological dermal changes caused by preparation and application procedures in percutaneous dose toxicity studies in dogs, rabbits and rats. *Journal of Toxicologic Pathology*. 28(1), 1-19. <https://doi.org/10.1293/tox.2014-0021>
- Nationalencyklopedin (u.å.) *Erytem*.
<https://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/erytem> [2021-02-17]
- Orpet, H & Welsh, P (2011). *Handbook of Veterinary Nursing*. 2:e uppl. 313. West Sussex: Wiley-Blackwell
- Paterson, S. (2018). Atopic dermatitis. *The Veterinary Nurse*. 9(4). DOI:<https://doi.org/10.12968/vetn.2018.9.4.194>
- Region Uppsala (2021). *Skärpta regionala rekommendationer - covid-19*.
<https://regionuppsala.se/det-har-gor-vi/vara-verksamheter/halso-och-sjukvard/information-om-coronaviruset/covid-19---skarpta-regionala-rekommendationer-for-personer-som-bor-och-vistas-i-uppsala-lan/> [2021-03-07]
- Rodrigues Hoffmann, A., Patterson, A.P., Diesel, A., Lawhon, S.D., Ly, H.J., Elkins Stephenson, C., Mansell, J., Steiner, J.M., Dowd, S.E., Olivry, T., Sushodolski, J.S. (2014). The Skin Microbiome in Healthy and Allergic Dogs. *Plos One*. DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083197>

- Sandven, P., Lassen, J. (1999). Importance of Selective Media for Recovery of Yeasts from Clinical Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 37(11), 3731–3732. DOI: 10.1128/JCM.37.11.3731-3732.1999
- SFS 2009:302. *Lag (2009:302) om verksamhet inom djurens hälso- och sjukvård*. Stockholm: Näringsdepartementet
- Song, S.J., Lauber, C., Costello, E.K., Lozupone, C.A., Humphrey, G., Berg-Lyons, D., Caporaso, J.G., Knights, D., Clemente, J.C., Nakielny, S., Gordon, J.J., Fierer, N., Knight, R., (2013). Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *eLIFE*. DOI: 10.7554/eLife.00458
- SOSFS 2015:10. *Socialstyrelsens föreskrifter om basal hygien i vård och omsorg*. Stockholm: Socialstyrelsen
- Swevet AB 2021. *Klippmaskin Isis sladdlös inkl skär /st*.
https://www.swevet.se/product/klippmaskin-isis-sladdlos-inkl-skar-st/p-59979?fbclid=IwAR1rIQOGjh8P-Yr1VenwkpJFvp5apyPWKqVfMzfBFrTuOCLe8R_UbY1zF34 [2021-05-29]
- VetBact (2018). *Blodagar*.
<https://www.vetbact.org/index.php?displayextinfo=54&vbsearchstring=blodagar> [2021-02-07]
- VetBact (2020). *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS)*.
<https://www.vetbact.org/index.php?displayextinfo=102&vbsearchstring=MALDI-TOF> [2021-02-07]

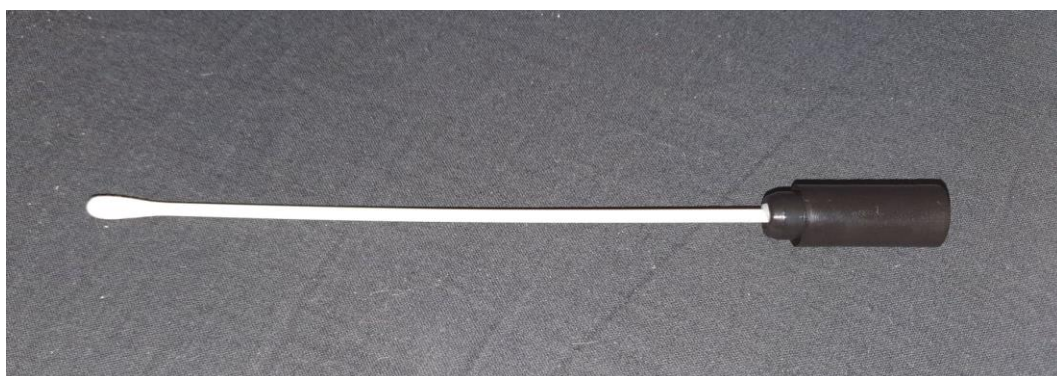
7. Tack

Vi vill innerligt tacka vår handledare, Lena Olsén, för all vägledning, stöd och hjälp hon bidragit med som gjort detta arbete möjligt. Hennes engagemang har varit bortom vad vi kunnat förvänta oss och hon har gjort arbetet roligt att jobba med genom hela perioden.

Ytterligare ett tack förmedlas till de som hjälpt oss på laboratoriet, inklusive vår biträdande handledare Lise-Lotte Fernström. Vi vill även rikta ett tack till vår skrivgrupp för all feedback samt visat intresse för arbetet under dess gång.

8. Bilagor

Bilaga 1.



AMIES-tops

Bilaga 2



Plastmall, 3x1cm

Bilaga 3



Bilaga 4



Uppdragningspipett inställd för 0,1ml

Bilaga 5



Sterilförpackad återanvändningsbar rackla använd för rackling vid utstryk på blod-och sabouraud agar

Bilaga 6

Resultat av MALDI-TOF utförd på bakterier från blodagar inkuberade 48h-odling, från rakat och orakat ben efter spritning

Hund ID	Bakterietyp på rakat prov	Bakterietyp på orakat prov
Hund #1	<i>Deinococcus wulumuqiensis</i> (2,36; 2,37)	-
Hund #2	-	<i>Micrococcus luteus</i> (2,44; 2,43)
Hund #3	-	-
Hund #4	-	<i>Micrococcus luteus</i> (2,44; 2,48)
Hund #5	<i>Micrococcus luteus</i> (2,38; 2,34)	<i>Micrococcus luteus</i> (2,32; 2,6)
Hund #6	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (1,81;2,03)
Hund #7	-	-
Hund #8	-	-
Hund #9	-	-
Hund #10	-	-
Hund #11	-	-
Hund #12	<i>Moraxella canis</i> (2,04) <i>Micrococcus sp</i> (1,93)	-
Hund #13	-	-
Hund #14	-	-
Hund #15	-	-
Hund #16	-	-
Hund #17	-	-
Hund #18	-	-
Hund #19	-	-
Hund #20	-	-

MALDI-TOF-; MALDI-TOF har ej utförts på provet på grund av otillräcklig växt, (a; b); poängvärde från MALDI-TOF, #; Hund ID

Bilaga 7

Result Overview

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second-best match)	Score Value
A1 (+++)(A)	7009 sin A (Standard)	Staphylococcus hominis	2.35	Staphylococcus hominis	2.09
A2 (+++)(A)	7009 sin A (Standard)	Staphylococcus hominis	2.11	Staphylococcus hominis	2.00
A3 (+++)(A)	7009 dx A (Standard)	Micrococcus luteus	2.21	Micrococcus luteus	2.20
A4 (+++)(A)	7009 dx A (Standard)	Micrococcus luteus	2.38	Micrococcus luteus	2.32
A5 (+++)(C)	x7009dxb (Standard)	Staphylococcus warneri	2.09	Staphylococcus warneri	1.95
A6 (+++)(C)	x7009dxb (Standard)	Enterococcus faecium	2.21	Enterococcus faecium	2.15
A7 (+++)(A)	x0793dxa (Standard)	Enterococcus faecium	2.39	Enterococcus faecium	2.34
Result overview table--continued on next page					

Exempel på resultat av typning inklusive scorevärde från MALDI-TOF

Bilaga 8

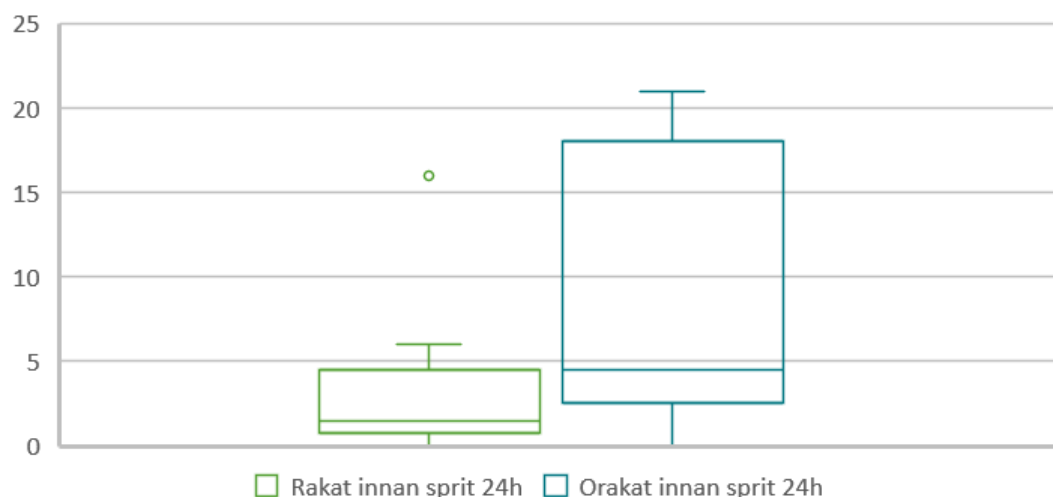
Resultatet av odling av prov tagna från 20 hundar, odlade på sabouraudplattor och avlästa efter 120h.

Hund ID	Antal kolonier rakat	Antal kolonier orakat
Hund #1	0* ¹	0* ¹
Hund #2	0* ¹	0* ¹
Hund #3	0* ¹	0* ¹
Hund #4	0* ¹	0* ¹
Hund #5	0* ¹	0* ¹
Hund #6	0 ¹	0 ¹
Hund #7	0 ¹	0 ¹
Hund #8	0 ¹	0 ¹
Hund #9	0 ¹	0 ¹
Hund #10	0 ¹	0 ¹
Hund #11	0* ²	0* ²
Hund #12	0* ²	0* ²
Hund #13	0* ²	0* ²
Hund #14	0* ²	0* ²
Hund #15	0* ²	0* ²
Hund #16	0* ²	0* ²
Hund #17	0 ²	0 ²
Hund #18	0 ²	0 ²
Hund #19	0 ²	0 ²
Hund #20	0 ²	0 ²

*; Har inkuberats i 144h, 1; prov taget med tops AMIES från Copan innovation, 2; prov taget med tops cotton tipped applicator från SELEFA, hund #; tilldelat ID-nummer för hund i studien, rakat; prov taget på rakat ben, orakat; prov taget på orakat ben

Bilaga 9

BAKTERIEKOLONIER INNAN SPRIT



Förekomst av bakterier baserat på antal bakteriekolonier efter odling på blodagar efter 24h, från prov taget innan spritning. Y-axeln visar antalet bakteriekolonier som observerades på odlingarna